

академик Н. П. ДУБИНИН, Г. И. ГОРОШКИНА,
Г. Д. ЗАСУХИНА, В. П. МАРИНИНА

**ФОРМИРОВАНИЕ ХРОМОСОМНЫХ АНОМАЛИЙ,
ИНДУЦИРОВАННЫХ РНК ВИРУСА ПОЛИОМИЕЛИТА, В КЛЕТКАХ
С АКТИВНОЙ И ДЕФЕКТНОЙ СИСТЕМАМИ РЕПАРАЦИИ**

В последнее время большое число исследований посвящено влиянию вирусов на хромосомный аппарат клетки. Имеются два больших класса вирусов: ДНК- и РНК-содержащие вирусы млекопитающих. Вирусы обладают мутагенными свойствами и могут индуцировать хромосомные и митотические аномалии аналогично некоторым химическим мутагенным агентам (¹⁻³). Причем природа влияния вирусов на клетки различна — одни вирусы угнетают, а другие стимулируют митотическую активность (⁴). Относительно вирусиндуцированных хромосомных аномалий уста-

Таблица 1

Митотический индекс в п.х. после воздействия РНК вируса полиомиелита,
РНК + РНКазы, РНКазы

Вариант опыта	Вид воздействия	Время фиксации, час.	Число собранных клеток	Число делющихся клеток	Митотический индекс, % (среднее)
1	РНК	6	1000	19	1,6
		24		14	
	РНК + РНКаза	6	1000	61	6,2
		24		63	
	РНКаза	6	1000	59	5,9
		24		60	
2	Контроль	6	1000	90	8,5
		24		81	
	РНК	6	1000	20	1,7
		24		15	
	РНК + РНКаза	6	1000	71	7,05
		24		70	
3	РНКаза	6	1000	69	6,9
		24		70	
	Контроль	6	1000	89	8,8
		24		87	
	РНК	6	1000	21	1,7
		24		14	
Суммарный результат	РНК + РНКаза	6	1000	71	7,2
		24		73	
	РНКаза	6	1000	68	7,1
		24		75	
	Контроль	6	1000	95	9,6
		24		97	
	РНК	6	—	—	2
		24		—	1,4
	РНК + РНКаза	6	—	—	6,6
		24		—	6,8
	РНКаза	6	—	—	6,7
		24		—	6,9
	Контроль	—	—	—	8,9
		—		—	8,9

Таблица 2

Хромосомные aberrации в культуре клеток п.х. при воздействии РНК вируса полиомиелита, РНК + РНКазы, РНКазы

Вид воздействия	Число собранных клеток	Время фиксации, час.	Число клеток с повреждениями	Число aberrаций	Аберрации, %
РНК вируса полиомиелита	350	6	128	145	$42 \pm 1,10$
РНК + РНКазы	300	24	47	53	$17 \pm 2,33$
	300	6	45	55	$18 \pm 2,44$
	300	24	39	47	$15 \pm 2,18$
РНКазы	350	6	30	40	$12 \pm 1,89$
	300	24	30	31	$10 \pm 1,77$
Контроль	500	6	15	15	$3 \pm 0,77$
	500	24	20	20	$4 \pm 0,89$

повлечено 3 основных типа повреждений: единичные хромосомные разрывы, распыление хромосом и аномальность веретена (⁵).

В данной работе поставлена задача — изучить характер aberrаций хромосом и их судьбу после воздействия РНК вируса полиомиелита в первичных (п.х.) и перевиваемых (п.с.х.) клетках сирийского хомячка. Ранее нами был дан сравнительный анализ активности систем репарации в этих клетках (⁶). Было установлено, что п.х. обладает активной системой репарации; п.с.х. дефектна по этой системе. Вирус полиомиелита, выбранный нами в качестве модели исследования, не репродуцируется в клетках п.х. и п.с.х., однако при инокуляции этих клеток инфекционной вирусной РНК наблюдали репродукцию вируса на протяжении одного вирусного цикла. Таким образом, воздействием РНК вируса полиомиелита на чувствительные клетки достигался эффект, аналогичный эффекту некоторых физических и химических мутагенов с определенным периодом воздействия на клетки, и исследовалось последствие этого фактора. Клетки обеих культур инокулировали инфекционной РНК вируса полиомиелита (штамм L Sc2ab, вирус полиомиелита I типа), который был выделен методом фенольной депротенинизации. Титр вирусной РНК в чувствительных клетках почек зеленой мартышки (lg б.е./мл) составлял в среднем 3,3—4,0. В качестве контроля были использованы следующие клетки: 1) клетки, инокулированные РНК вируса полиомиелита + РНКазы (титры вируса были <1,0); 2) клетки, инокулированные препаратами РНКазы; 3) клетки, не инфицированные вирусной РНК.

Клетки фиксировали через 6 и 24 час. после обработки. Фиксацию проводили смесью метилового спирта и ледяной уксусной кислоты в отношении 3:1, препараты окрашивали 2% ацетоорсеином. Цитогенетический анализ показал определенные различия в клетках с активной и неактивной системой репарации после воздействия РНК вируса полиомиелита.

Митотический индекс в клетках п.с.х. к 24 час. инкубации оставался на уровне контроля или был несколько выше: 18% в контроле, 18—25% в опыте. Число aberrаций к 24 час. инкубации возрастает от 2% в контроле до 38—40%. Причем высокий уровень хромосомных aberrаций наблюдали как через 6 час., так и через 24 часа инкубации (рис. 1).

Как видно из рис. 2 и табл. 1, в клетках п.х. к 24 час. инкубации митотическая активность падает от 8—9% в контроле до 1,5% соответственно при действии РНК вируса полиомиелита. Инокуляция клеток смесью РНК вируса с РНКазой и только РНКазой приводит к незначительному уменьшению митотической активности по сравнению с контролем до 6,6—6,8%. Анализ хромосомных aberrаций в клетках п.х. показал, что к 6 час. инкубации после инокуляции клеток РНК вируса, количество aberrаций возрастает от 2% в контроле до 42%, а к 24 час. инкубации количество aberrаций составляло 18%. При инокуляции клеток совместно РНК и РНКазой к 6 час. инкубации число aberrаций составляло 18%; к

24 час. 15%. При действии только одной РНКазой это соотношение было к 6 час. 12%; к 24 час. 10% aberrаций (рис. 2, табл. 2). Спектр хромосомных aberrаций менялся следующим образом: к 6 час. инкубации хроматидные делеции составляли 25%, концевые парные делеции 13%, хроматидные дицентрики 1%, хромосомные дицентрики 2%, микрофрагменты 3%. К 24 час. инкубации уменьшение количества aberrаций наблюдалось за счет падения числа хроматидных делеций и концевых парных делеций — первые составляли 5%; вторые 8–10%. Количество других видов aberrаций существенно не изменялось. Надо отметить, что вирусная инфекция в обеих культурах вызывала расхождение хроматид по центромере. Таким образом, полученные данные свидетельствуют, что испытанные нами клетки п.х. и п.с.х. по-разному реагируют на действие не только облучения и химических мутагенов, как нами было показано ранее (⁷), но и на биологические факторы.

По характеру ответа на данное воздействие нами обнаружена определенная аналогия между у.-ф. облучением и действием РНК вируса полиомиелита, которая заключается в существенном уменьшении числа aberrаций к концу клеточного цикла в клетках п.х. с активной системой репарации и стабильным их числом в клетках п.с.х. с дефектной системой. Таким образом, показано, что реакция клеток п.х. — п.с.х. на воздействие факторов вирусной природы и их ответ зависит от наличия или отсутствия в этих клетках активных репарационных механизмов.

Институт общей генетики Академии наук СССР
Институт полиомиелита и вирусных энцефалитов
Академии медицинских наук СССР
Москва

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ В. В. Вашкова, В. М. Жданов, *Вопр. вирусол.*, № 1, 91 (1966). ² И. Ф. Барзский, И. В. Дементьев, В. В. Вашкова, *Вопр. вирусол.*, № 1, 131 (1968). ³ H. F. Stich, O. S. John, *Progr. Med. Virol.*, № 12, 78 (1970). ⁴ М. Н. Медведева, Г. М. Водейко, Д. Б. Голубев, *Цитология*, 14, 6, 753 (1972). ⁵ Г. Р. Михайлова, *Генетика*, 3, № 7, 429 (1967). ⁶ Н. П. Дубинин, Л. Л. Матусевич и др., *ДАН*, 203, № 3, 693 (1972). ⁷ Н. П. Дубинин, Г. И. Горюшкина и др., *ДАН*, 210, № 2 (1973).

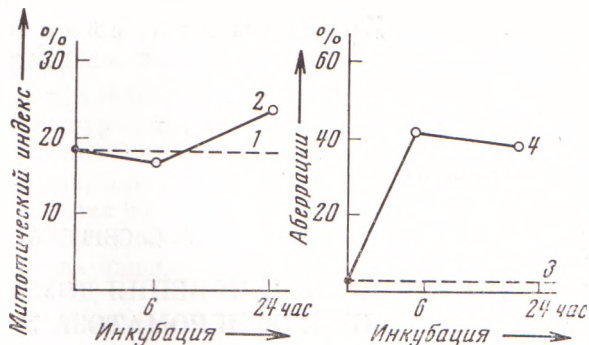


Рис. 1. Влияние РНК вируса полиомиелита на митотический индекс и число хромосомных aberrаций культуры клеток п.с.х. 1 — контроль; 2 — РНК вируса полиомиелита; 3 — контроль; 4 — РНК вируса полиомиелита

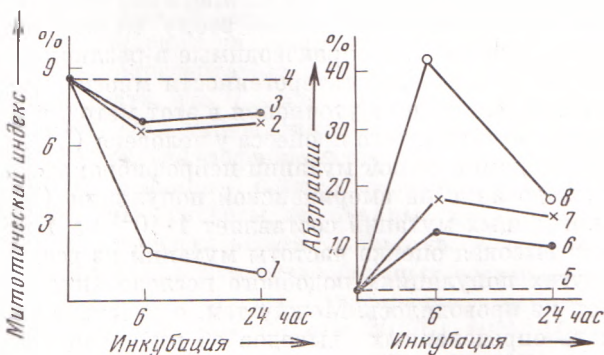


Рис. 2. Величина митотического индекса и количество хромосомных aberrаций в п.х. после обработки РНК вируса полиомиелита, РНК вируса + РНКазы, РНКазы. 1 — РНК вируса полиомиелита; 2 — РНК + РНКазы; 3 — РНКазы; 4, 5 — контроль; 6 — РНКазы; 7 — РНК + РНКазы; 8 — РНК вируса полиомиелита

Поступило
23 IV 1973